

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

Magdalena Merkaš

7225/N

UTJECAJ BETA-GLUKANA NA IMUNOSNI SUSTAV

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Imunologija za nutricioniste

Mentor: izv. prof. dr.sc. *Lidija Šver*

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam
Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama

UTJECAJ BETA-GLUKANA NA IMUNOSNI SUSTAV

Magdalena Merkaš, 0058208481

Sažetak: Beta-glukan je bioaktivni spoj te se njegov utjecaj na imunosni sustav sve više istražuje. Pokazuje velik potencijal u liječenju mnogih bolesti stimulacijom imunosnog sustava pri čemu se posebno ističe njegov pozitivan učinak u liječenju oboljelih od raka. Također, pokazuje antioksidativna svojstva koja su pojačana međudjelovanjem s drugim sastavnicama hrane, što ga čini dobrim dodatkom prehrani. Kao dodatak prehrani koristi se pročišćeni beta-glukan, dok u prirodi postoje različiti izvori beta-glukana. Ovaj rad daje pregled utjecaja beta-glukana na različite komponente imunosnog sustava i mehanizame kojima se postiže imunostimulativni učinak.

Ključne riječi: beta-glukan, dodatak prehrani, imunosni sustav, imunost

Rad sadrži: 26 stranica, 7 slika, 1 tablica, 47 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: *Izv. prof. dr.sc. Lidija Šver*

Datum obrane: 16.srpnja, 2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Nutrition
Department of Biochemical Engineering
Laboratory for Biology and Microbial Genetics

EFFECT OF BETA-GLUCAN ON IMMUNE SYSTEM

Magdalena Merkaš, 0058208481

Abstract: Beta-glucan is bioactive compound and its impact on the immune system is increasingly investigated. It shows great potential in the treatment of many diseases by stimulating the immune system, especially by emphasizing its positive effect in treating cancer patients. It also shows antioxidant properties, which are intensified by interactions with other food ingredients making it a good supplement to nutrition. In the diet, purified beta-glucan is used, while in the nature there are different beta-glucan sources. This paper provides an overview of beta-glucan influences on various components of the immune system and mechanisms that achieve an immunostimulatory effect.

Keywords: beta-glucan, dietary supplement, immune system, immunity

Thesis contains: 26 pages, 7 figures, 1 tables, 47 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is printed and electronic version is deposited in library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: dr.sc. *Lidija Šver*, Associate Professor

Defence date: July 16th, 2018.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Opće karakteristike beta-glukana.....	2
2.1.1. Izvori i struktura beta-glukana	2
2.1.1.1. Beta-glukan zobi.....	3
2.1.1.2. Beta-glukan pekarskog kvasca	4
2.1.1.3. Beta-glukan gljiva.....	4
2.1.2. Utjecaj strukture beta-glukana na aktivnost	5
2.1.3. Beta glukan kao dodatak prehrani	7
2.1.3. Antioksidativna uloga beta-glukana	8
2.2. Uloga beta-glukana u imunosnom odgovoru	9
2.2.1. Receptori beta-glukana.....	11
2.2.1.1. Receptor za komplement (CR3)	12
2.2.1.2. Laktozilceramidni receptor (LacCer; CDw17)	13
2.2.1.3. Receptori slični Tollu (TLRs)	13
2.2.1.4. Dektin-1	14
2.2.1.5. Receptori čistači (SR).....	14
2.2.2. Utjecaj na NK-stanice	17
2.2.3. Utjecaj na makrofage	17
2.2.4. Utjecaj na citokine	18
2.2.4.1 Čimbenik nekroze tumora α (TNF- α)	18
2.2.5. Utjecaj na limfocite	19
2.2.6. Utjecaj na neutrofile.....	19
2.3.7. Protutumorska aktivnost beta-glukana	20
3. ZAKLJUČAK.....	22
4. LITERATURA	23

1. UVOD

Imunosni sustav je jedan od najvažnijih tjelesnih sustava te bez njega preživljavanje ne bi bilo moguće. Zadužen je za razlikovanje „stranog“ od „tuđeg“ i za stvaranje imunog odgovora. Kada se organizam susretne s infektivnim agensom, aktivira se imunski sustav. Mehanizam se sastoji od 3 koraka: prepoznavanje patogena, odgovor na njegovu aktivnost (imunska reakcija) i uklanjanje patogena iz organizma domaćina. Imunitet može biti podijeljen na specifične i nespecifične odgovore, a oba odgovora se mogu manifestirati kroz stanične i humoralne mehanizme. Nespecifična otpornost nastaje bez prethodnog dodira s antigenom te je usmjerena protiv svih antigena koji ulaze u organizam. Kao prva linija obrane, čine ju anatomske zapreke kao što su koža i sluznica, fiziološke zapreke, zatim različite otopljene komponente, npr. komplement, interferon, lizozim te stanični mehanizmi, kao što su makrofagi i NK stanice. Protivno tome, specifična otpornost nastaje na temelju dodira organizma s antigenom, a glavnu ulogu imaju limfociti. Na nespecifičnu nadovezuje se specifična imunitet. Stanični mehanizam urođene imuniteta bazira se na fagocitozi i citotoksičnoj aktivnosti stanica, dok se humoralni odgovor zasniva na proteinima akutne faze upale, lizozima i sustavu komplementa. Za vrijeme humoralnog odgovora, stanice se skupljaju na mjestu probijanja patogena i luče molekule, tj. citokine koje su posrednici upalne reakcije. Sustav komplementa odgovoran je za poticanje fagocitoze, brzo uništavanje mikrobnih čestica i samu kontrolu upalnog procesa. Izlučeni citokini potiču stečeni imunski odgovor povezan s aktivnošću pomoćničkih limfocita T. Stanični odgovor stečene imuniteta čine limfociti T te njihovi produkti, interleukini. Za humoralni odgovor stanične imuniteta zaduženi su limfociti B te njihovi produkti kao što su imunoglobulini (Abbas i sur., 2017).

Beta-glukani pripadaju grupi biološki aktivnih prirodnih komponenta hrane koji se nazivaju regulatorima biološkog odgovora. Oni su polisaharidi, polimeri glukoze koji čine građivni materijal stanične stijenke algi, biljaka, gljiva, kvasica i bakterija. Smatra se da djeluje na makrofage, dendritičke stanice, ali i na neutrofile, limfocite B, limfocite T i NK stanice. Zbog toga se danas sve više istražuje njihova uloga u regulaciji imunog odgovora, posebno u sprječavanju razvoja raka u ranoj fazi, ali i njihova uloga u sprječavanju drugih bolesti, odnosno ublažavanju simptoma.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Opće karakteristike beta-glukana

2.1.1. Izvori i struktura beta-glukana

Beta-glukani spadaju u veliku skupinu glukana te u prehrambena vlakna. Glukani su polimeri glukoze podijeljeni s obzirom na tip glikozidne veze u alfa- i beta-glukane. Beta-glukani su homogeni polisaharidi koji se sastoje od monomera D-glukoze međusobno povezanih beta-glikozidnim vezama, dok su u alfa-glukanima monomeri glukoze povezani alfa-glikozidnim vezama (Driscoll i sur., 2009). Beta-glukani su sastavnice stanične stijenke nekih patogenih bakterija, pekarskog kvasca, brojnih vrsta gljiva, morskih smeđih i dijatomejskih algi te biljaka, posebice trava (Špoljarić i sur., 2011).

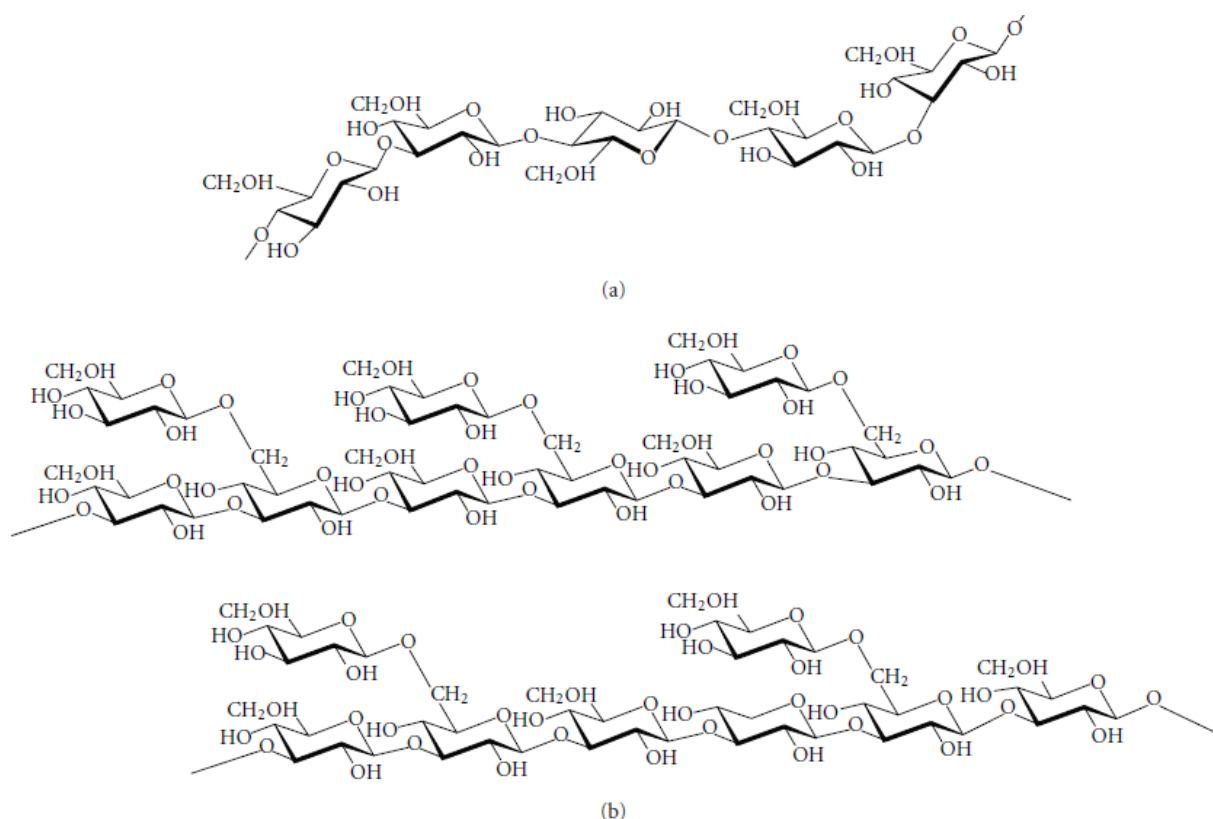
Makromolekularna struktura i aktivnost beta-glukana ovisi o izvoru i metodi izolacije. Osnovna struktura tih polimera razlikuje se od izvora do izvora, ali uglavnom se sastoji od linearnih polimera glukoze s beta-(1,3)-, beta-(1,4)- ili beta-(1,6)-glikozidnim vezama. Beta-glukani zobi i ječma prvenstveno su linearni s velikim područjima beta-(1,4)-glikozidnih veza koje razdvajaju kraće dijelove povezane beta-(1,3)-glikozidnim vezama, dok beta-glukani kvasca imaju beta-(1,3)- okosnicu na koju su beta-(1,6)-vezama povezani beta-(1,3)- ogranci. Gljive sadrže ravni lanac glukoza povezanih beta-(1,3)-glikozidnim vezama na koji su vezani kratki beta-(1,6)-bočni lanci (Driscoll i sur., 2009).

Najjednostavniji glukan je linearan glukan bez bočnih ogranaka, beta-(1,3)-D-glukan kojeg se može naći unutar prokariota i eukariota. Bočno razgranati beta-(1,3;1,2)-D-glukan nalazi se samo u kapsuli bakterije *Streptococcus pneumonia* (El Khoury i sur., 2011).

Poli-(1-6)-D-glukopiranozil-(1-3)-D-glukopiranoza glukan (PGG glukan; generički naziv Betafectin) pročišćen je iz staničnih stijenki kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (Zimmerman i sur., 1998).

U bakterija iz skupine *Rhizobiaceae* nađeni su ciklički beta-glukani koji u njima čine 5 do 20 % stanične stijenke. Vrste roda *Agrobacterium* i *Rhizobium* sadrže glukozne ostatke povezane beta-(1,2)-glikozidnim vezama. U vrstama roda *Bradyrhizobium* mogu se naći i beta-(1,3)-glikozidne veze i beta-(1,6)-glikozidne veze. Stupanj polimerizacije cikličkih beta-glukana varira od 10 do 13 u *Bradyrhizobium japonicum* do 17 do 40 u *Rhizobium melioli* (Breedveld i Miller, 1994).

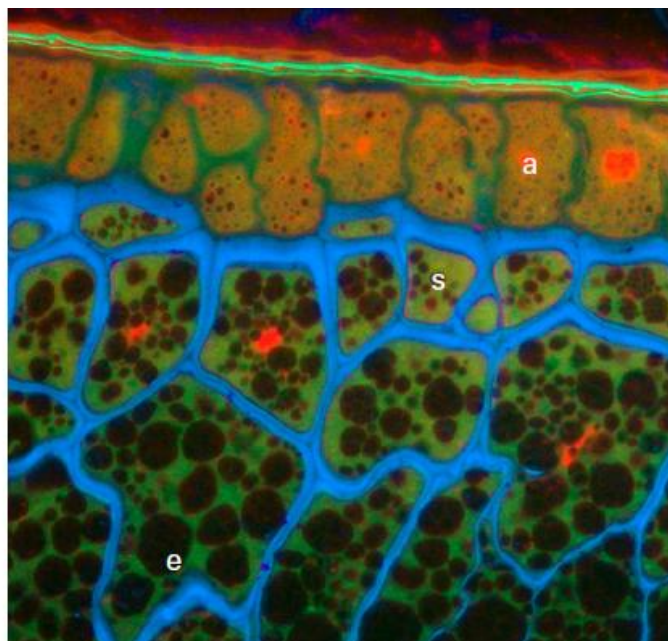
Na Slici 1. prikazana je kemijska struktura beta-glukana.



Slika 1. Kemijska struktura beta-glukana: a) beta-(1,3;1,4)-D-glukan, b) beta-(1,3;1,6)-D-glukan (Kofuji i sur., 2012)

2.1.1.1. Beta-glukan zobi

Jedan od izvora beta-glukana je zob, u kojem se beta-glukan nalazi u staničnoj stijenci endosperma ispunjenog škrobom. Stanična stijenka endosperma zobi ima slojevitú strukturu koju čini relativno tanki vanjski sloj sastavljen uglavnom od, u vodi netopljivih polisaharida kao što su celuloza, glukomanan, i debljeg unutarnjeg sloja koji se sastoji od, u vodi topljivih polisaharida (Slika 2-e). Ovi, u vodi topljivi polisaharidi se uglavnom sastoje od beta-glukana i male količine topljivog arabinoksilana. Stanična stijenka subaleurona obično je mnogo deblja nego vanjski endosperm i bogata beta-glukanom (Slika 2-s). U vanjskom sloju stanične stijenke aleurona također je nađen tanak sloj beta-glukana (Slika 2-a) (Wang i Ellis, 2014).



Slika 2. Beta-glukan u staničnoj stijenci obojan plavom bojom. a, aleuron; s, subaleurone; e, endosperm. Preuzeto iz Wang i Ellis (2014), ljubaznošću S.S. Miller, Agriculture and Agri-Food Canada.

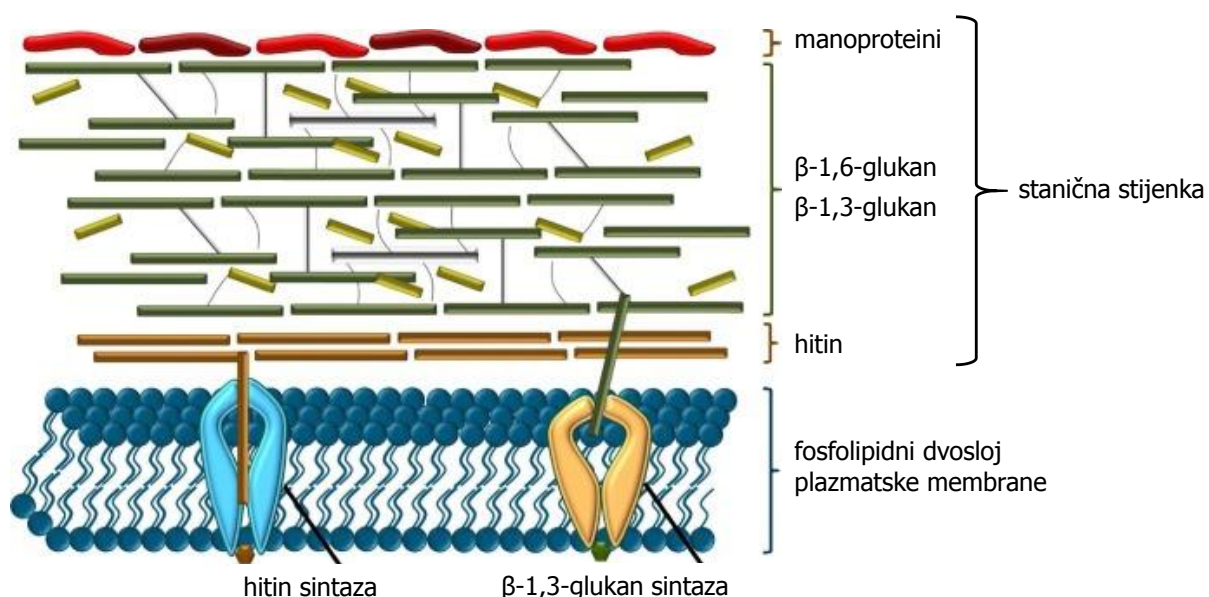
2.1.1.2. Beta-glukan pekarskog kvasca

U pekarskom kvascu se beta-glukan nalazi unutar stanične stijenke. Stanična stijenka pekarskog kvasca sastoji se od tri sloja, unutar kojih se nalaze beta-glukani: unutrašnjeg sloja građenog od netopivog beta-glukana (30 do 35 %), srednjeg sloja sastavljenog od topivog beta-glukana (20 do 22 %) i vanjskog glikoproteinskog sloja (30 %). U istraživanjima najčešće rabljeni beta-glukani iz pekarskog kvasca *S. cerevisiae* su glukan fosfat, koji je male molekulske mase, PGG-glukan i zimosan, koji su velike molekulske mase (Špoljarić i sur., 2011).

2.1.1.3. Beta-glukan gljiva

U gljiva se različiti beta-glukani nalaze u miceliju (Slika 3), a nazvani su prema njihovim izvorima. Tako se glukani, maitake (*Grifola frondosa*), gljiva šitake (*Lentinus edodes*), šizofilan (*Shizophyllum commune*), bijele truleži (*Sclerotinia sclerotiorum*) i njezinih srodnika (*S. glaucum* i *S. rolfsii*), plemenite pečurke (*Agaricus bisporus*) i njezinih srodnika (*A. blazei*, *A. sylvaticus*), kovrčaste kokice (*Sparassis crispa*), bukovače (*Pleurotus ostreatus*), i

mešimakobu gljive (*Phellinus linteus*), nazivaju redom: grifolan, lentinan, šizofilan, SSG-glukan, skleroglukan ili manan (Špoljarić i sur., 2011).



Slika 3. Beta-glukan u staničnoj stijenci gljiva. Preuzeto i prilagođeno iz Fesel i Zuccaro (2016).

2.1.2. Utjecaj strukture beta-glukana na aktivnost

Na temelju istraživanja uočeno je da struktura i podrijetlo beta-glukana igraju veliku ulogu u njegovoj bioaktivnosti. Frekvencija, položaj i dužina bočnih lanaca mogu igrati ulogu u imunomodulaciji. Analiza X-zrakama pokazala je da je lentinan (beta-glukan izoliran iz gljive shiitake), sastavljen od beta-(1,3)-D-glukana sa strukturom trostruke zavojnice, pokazuje puno veću aktivnost od lentiana sa slučajnom strukturom ili sa jednom zavojnicom (Zhang i sur., 2005).

Razlike u molekulskoj masi, obliku i strukturi beta-glukana, topljivosti, stupnju grananja i naboju njihovih polimera i strukture u vodenim medijima diktiraju razlike u biološkoj aktivnosti (Tablica 1). Osim toga, primjena grubih postupaka prilikom izolacije može dovesti do promjene prirodne strukture i biološke aktivnosti beta-glukana. S obzirom da topljivost beta-glukana raste smanjenjem stupnja grananja, glukani se mogu podijeliti i s obzirom na njihova svojstva topljivosti (Petravić-Tominac i sur., 2010).

In vitro istraživanja na ljudskim leukocitima s 13 različitih preparata glukana pokazala su da najveći potencijal *in vitro* lučenja proupalnih citokina imaju pustulan, lihenan,

ksiloglukan i pululan. Kurdlan, glukan iz kvašćevih gljivica i ječma pokazali su slabu do umjerenu aktivnost. Laminarin, glukan zobí, pahiman, paramilon, pustulan, šizofilan, skleroglukan i ksiloglukan pokazali su slabu aktivnost. Time je pokazano da su najveći poticatelji proizvodnje citokina zapravo vrlo različitih struktura i molekulskih masa, što pokazuje da beta-glukani s većom molekulskom masom ne pokazuju nužno veću aktivnost (Noss i sur., 2013).

Tablica 1. Različite vrste, izvori i strukture beta-glukana. Preuzeto i prilagođeno iz Murphy i sur. (2010) i Noss i sur. (2013).

Naziv	Izvor	Struktura (beta-glikozidne veze)
Glukan pekarskog kvasca	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (kvasac)	1,3 i manje 1,6, razgranat
Glukan ječma	<i>Hordeum vulgare</i> (biljke)	1,3;1,6, linearan
Kurdlan	<i>Alcaligenes faecalis</i> (bakterije)	1,3;1,6, linearan
Laminarin	<i>Laminaria digitata</i> (alge)	1,3;1,6, linearan
Lihenani	<i>Cetraria islandica</i> (lišaj)	1,3;1,6, linearan
Glukan zobí	<i>Avena sativa</i> (biljke)	1,3;1,6, linearan
Pahiman	<i>Poria cocos</i> (gljive)	1,3;1,6, razgranat
Paramilon	<i>Euglena gracilis</i> (alge)	1,3, linearan
Pululan	<i>Aureobasidium pullulan</i> (gljive)	1,4;1,6, razgranat
Pustulan	<i>Umbilicaria sp.</i> (lišaj)	1,6, linearan
Skleroglukan	<i>Sclerotium rolfsii</i> /glucanicum (gljive)	1,3;1,6, visoko razgranat
Ksiloglukan	<i>Tamarind</i> (biljke)	1,4, linearan
GRN (grifolan)	<i>Grifola frondosa</i> (gljive)	1,3;1,6, razgranat
SPG (sonifilan, šizofilan)	<i>Schizophyllum commune</i> (gljive)	1,3;1,6, razgranat
Zimosan	<i>S. cerevisiae</i> (kvasac)	nejednolika okosnica i ogranci
P-SG (polisaharid)	<i>G. Lucidum</i> (gljive)	1,3;1,6, razgranat
PGG (betafektin)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (kvasac)	1,3;1,6, visoko razgranat
LNT (lentinan)	<i>Lentinus</i> (gljive)	1,3;1,6, razgranat

Može se zaključiti da su potrebne daljnje studije kako bi se dodatno objasnila povezanost molekulske mase, strukture i izvora beta-glukana u korelaciji s njegovom biološkom aktivnosti.

2.1.3. Beta gluklan kao dodatak prehrani

Istraživanje beta-glukana započelo je tijekom 1960-ih i 1970-ih. U povijesti beta-glukana bitne su dvije odvojene linije: jedna u Europi i Sjedinjenim Američkim Državama, a druga u Japanu. U Europi se tradicionalno koristio zimosan, mješavina polisaharida izolirana iz stanične stijenke kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, a dugo nije bilo jasno koja komponenta zimosana je odgovorna za biološke učinke. Kad je zimosan bio detaljno proučen, zaključeno je da je upravo beta-glukan odgovoran za njegove pozitivne učinke. S druge strane, u Japanu je tradicionalna prehrana uključivala čestu konzumaciju gljiva. S obzirom da je njihova konzumacija pozitivno utjecala na zdravlje, detaljno je proučavana njihova struktura i bioaktivnost, što je dovelo do zaključka da je beta-glukan odgovoran za poticanje aktivnosti nespecifične imunosti (Vetvicka, 2011).

Brojna istraživanja pokazala su da beta-glukan može pozitivno djelovati u kombinaciji s drugim komponentama hrane. Posebno se istaknuo singergistički učinak beta-glukana s vitaminom C za kojeg se ustanovilo da stimulira iste imunosne odgovore kao i beta-glukan, tj. aktivnosti makrofaga i NK stanica te specifično stvaranje protutijela pojačavajući njegov učinak (Vetvicka, 2011).

Proučavan je i učinak beta-glukana u kombinaciji s resveratrolom (*trans*-3,4,5-trihidroksistilben). Resveratrol je biljni polifenol nađen u mnogim biljkama i voću, posebice u pokožici grožđa. I gluklan i resveratrol stimulirali su fagocitoznu aktivnost krvnih leukocita, povećanu ekspresiju membranskih markera na stanicama slezene i pridonijeli boljem oporavak slezene nakon inducirane leukopenije (Vetvicka, 2011).

Beta-glukan se pokazao uspješnim u snižavanju razine ukupnog kolesterola i LDL kolesterola. Smatra se da je glavni mehanizam na koji beta-glukan i drugi oblici topivih vlakana utječu na razinu glukoze u krvi vezan uz njihovu sposobnost smanjenja probave i apsorpcije komponenata hrane kao što je škrob (Pins i sur., 2006). Beta-glukan snižava razinu glukoze i lipida u krvi u bolesnika oboljelih od dijabetesa tipa 2 (Andrade i sur., 2015), snižava ukupni i LDL-kolesterol (Ho i sur., 2016), čime smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti.

Na tržištu se mogu naći brojni dodaci prehrani s različitom količinom beta-glukana. Tako se u ljekarnama mogu naći kapsule, šumeće tablete, tekući dodaci prehrani s beta-glukanom, često u kombinaciji s drugim bioaktivnim komponentama kao što su vitamin C, drugi vitamini i minerali ili koenzim Q10. Proizvođači tvrde da takvi proizvodi, ovisno o tome koji se dodaci prehrani uz beta-glukan nalaze u proizvodu, doprinose jačanju imunosnog

sustava, smanjenju umora i iscrpljenosti, normalnom metabolizmu energije i funkcioniranju živčanog sustava i slično.

Iako se većina istraživanja provodi ubrizgavanjem beta-glukana u krvotok, utvrđeno je da oralna primjena ne pokazuje puno slabiji učinak, ali da postoje značajne razlike među komercijalno dostupnim preparatima (Vetvicka i Vetvickova, 2008).

Još uvijek nije utvrđena točna preporučena i maksimalna dozvoljena doza beta-glukana, a najčešće preporuke spominju unos 20-30 mg/kg tjelesne mase, odnosno 1000-2000 mg dnevno. Ipak, uočeno je da ni velike doze, između 3000 i 15000 mg dnevno, nisu bile toksične ni opasne po zdravlje, dapače, veća doza doprinjela je većem učinku. No, kako bi se izbjegli neželjeni efekti, prije uzimanja velikih doza beta-glukana preporuča se konzultirati s liječnikom (Cooper, 2017).

EFSA je dodatke prehrani s beta-glukanom proglasila sigurnima (EFSA, 2011). U Hrvatskoj je također dozvoljeno dodavati beta-glukan kao dodatak prehrani, što regulirano Pravilnikom o dodacima prehrani (NN 126/2013).

Osim korištenja beta-glukana kao dodatka prehrani u obliku tableta i slično, sve češće se pristupa obogaćivanju hrane koja se svakodnevno konzumira. U Europi se najčešće obogaćuje kruh, i to s najmanje 0,75 g beta-glukana po porciji (oko 160 g ili 4 šnite kruha). Često se i obogaćuje sok, s dnevnim ukupnim unosom od 5 grama. Zbog topivosti, može se koristiti i koncentriran izvor beta-glukana, primjerice iz kvasca (Pollak i Ćosić).

2.1.3. Antioksidativna uloga beta-glukana

Poznato je da je oksidativni stres jedan od primarnih uzroka starenja i različitih bolesti kao što su ateroskleroza, dijabetes, upalne bolesti i tumori. Poznato je da je uklanjanje reaktivnih slobodnih radikala, odnosno njihova inaktivacija važna za prevenciju ovih bolesti. Sam nastanak raka bazira se na 3 koraka: inicijaciji, promociji i progresiji. Inicijacija podrazumijeva izlaganje organizma nekoj tvari koja dovodi do oštećenja DNA. U promociji dolazi do dijeljenja takvih stanica i nastanka premalignih lezija. Progresija uključuje pretvorbu premaligne u malignu leziju, uz nekontroliranu proliferaciju tumorskih stanica. Ljudi su svakodnevno izloženi mogućim kancerogenima pa se se u prevenciji nastanka tumora često spominju antioksidansi. Smatra se da oni najčešće sprječavaju nastajanje tumora u početnoj fazi budući da inaktiviraju slobodne radikale, koji doprinose mutagenezi putem destabilizacije membrana i oštećenja DNA. Istraživanja vezana uz antioksidativnu aktivnost beta-glukana pokazala su proturječne rezultate.

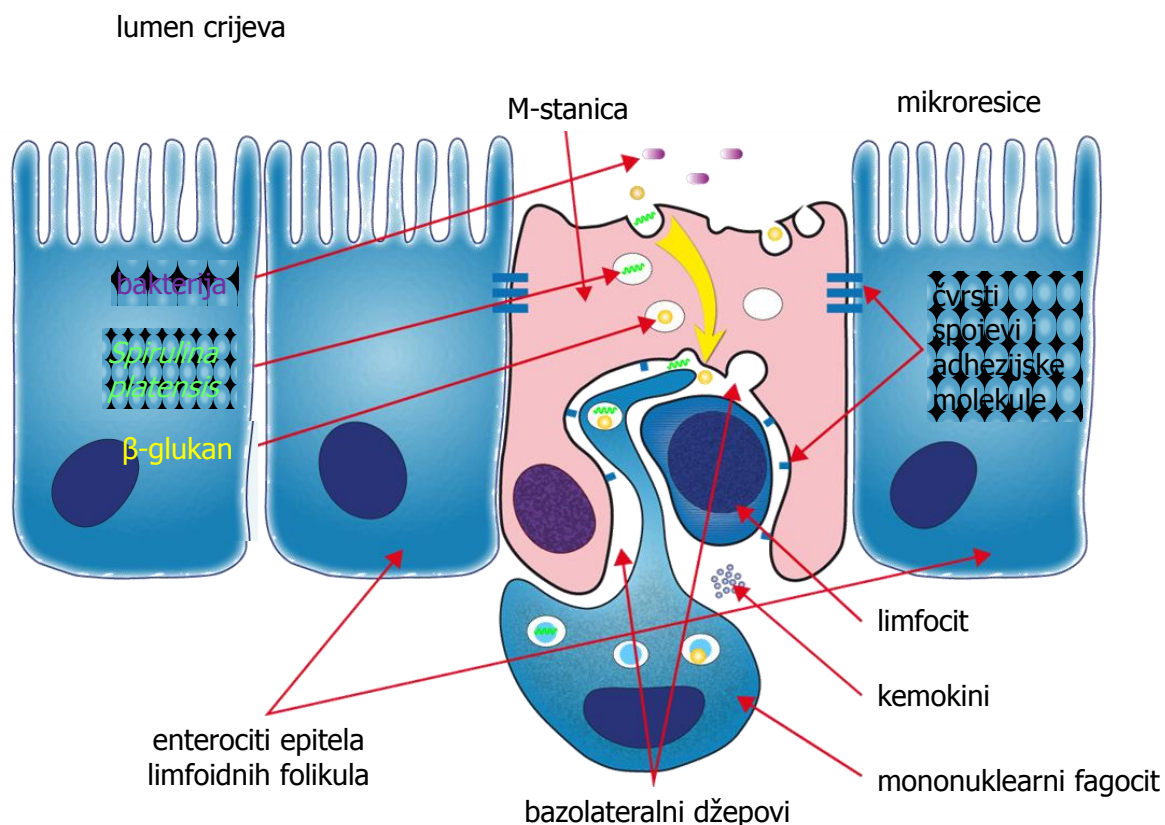
Kofuyi i suradnici (2012) su jednom istraživanju pokazali da beta-glukan izoliran iz ječma pokazuje veliku antioksidativnu aktivnost. Na količinu antioksidativne aktivnosti

značajno je utjecala struktura i molekulska masa beta-glukana, što je variralo zavisno do izvora i metode izolacije. Značajno je da je sposobnost uklanjanja hidroksilnog radikala od strane beta-glukana bila mnogo viša nego kod polimera korištenih kao aditiva u hrani. S druge strane, Olson i sur. (1996.) su ranije pokazali da je antioksidativna sposobnost glukana znatno manja u odnosu na klasična sredstva za uklanjanje slobodnih radikala kao što su PDTC (pirolidin ditiokarbamat) ili Trolox. Kada su monosaharidi bili raspoređeni u polimerni oblik povećala se antioksidativna sposobnost.

2.2. Uloga beta-glukana u imunosnom odgovoru

Funkcioniranje imunosnog sustava i mehanizmi imunosnog odgovora su veoma kompleksni i uključuju velik broj organa, tkiva i stanica. Takva cjelovitost otežava proučavanje utjecaja pojedinih stranih i štetnih tvari, komponenata hrane, lijekova i drugih čimbenika na imunosni odgovor. Ujedno, tvari često ne utječu samo na jednu komponentu imunosnog sustava već povlače za sobom cijelu kaskadu reakcija. Zbog toga je proučavanje utjecaja beta-glukana na imunost vrlo komplicirano. Glavna istraživanja provode se na razini prirođene i stečene imunosti, ali nastoji se i utvrditi utjecaj na različite stanice, stanične receptore, mehanizam uklanjanja patogena i jačanja imunosnog sustava. Ovakva istraživanja uvelike doprinose mogućnosti korištenja beta-glukana kao imunostimulatora u liječenju bolesti.

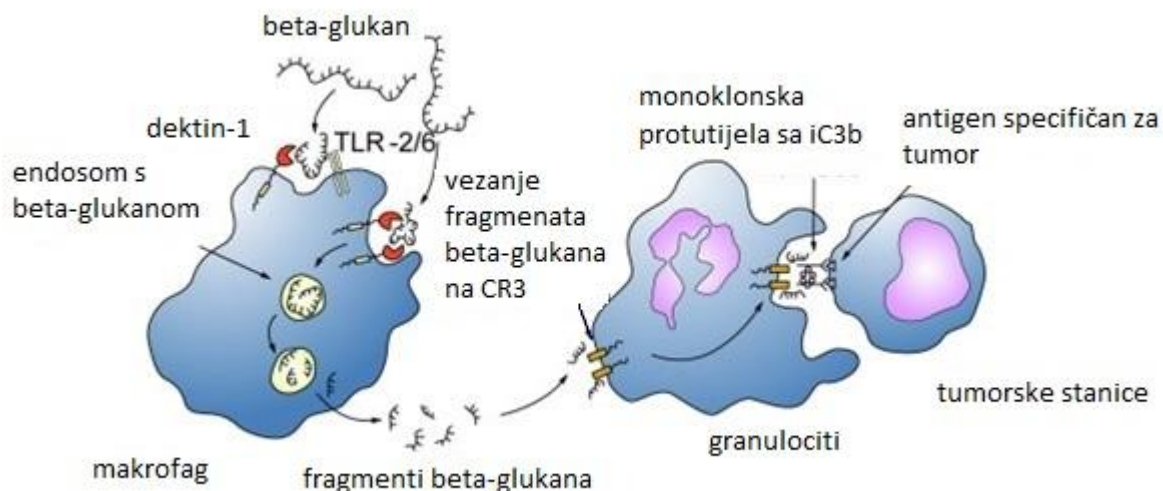
Beta-glukan može se primijeniti oralno i intravenozno. Glavni mehanizam oralne primjene odnosi se na interakcije s M-stanicama epitela lumena crijeva (Slika 4). M-stanice prenose beta-glukan iz lumena crijeva do stanica imunosnog sustava koje se nalaze u Peyerovim pločama (Stier i sur., 2014). Peyerove ploče su organizirano limfno tkivo koje se nalazi u lamini proprij tankog crijeva. Poznato je da se njemu se može pokrenuti imunosni odgovor na crijevne patogene i antigene unesene hranom. Peyerove ploče uglavnom su građene od limfocita B, manje limfocita T i pomoćničkih stanica, organiziranih u folikule. Broj i veličina Peyerovih ploča povećava se od rođenja do puberteta (Cornes, 1965).



Slika 4. Interakcija beta-glukana s M-stanicama. Preuzeto i prilagođeno iz Phytomedica.co.uk.

Intravenozno uneseni beta-(1,3;1,6)-glukani kvasca funkcioniraju kao adjuvans za protutumorska monoklonska protutijela poticanjem inaktiviranih C3b (iC3b) receptora (engl. *Complement receptor 3*, CR3; CD11b/CD18) cirkulirajućih granulocita, čime aktiviraju CR3 na poticanje citotoksičnosti prema iC3b obloženim tumorima. Nedavni podaci pokazuju da je oralno primjenjen beta-glukan ječma potaknuo aktivnost protutumorskih monoklonskih protutijela, što je dovelo do pojačanog povlačenja tumora i većeg preživljavanja. Uočeno je i da beta-glukan kvasca djeluje kao i beta-glukan ječma. Nadalje, označivanje beta-(1,3)-glukana fluoresceinom u *in vivo* studijama pokazalo je da se oralno uneseni beta-glukani prenose preko makrofaga dalje do slezene, limfnih čvorića i koštane srži. Unutar koštane srži makrofagi pregrađuju velike molekule beta-1,3-glukana u manje, topive fragmente beta-(1,3)-glukana. Takve fragmente zatim preuzimaju granulociti preko komponente komplementa 3. Granulociti s vezanim beta-glukanom pokazali su se uspješni u ubijanju C3b-opsoniziranih tumorskih stanica nakon njihovog dolaska na mjesto komplementarne

aktivacije slične tumoru obloženom monoklonskim protutijelima (Slika 5) (Hong i sur., 2004; Chan i sur., 2009).



Slika 5. Utjecaj beta-glukana na imunosne stanice vezivanjem na CR3. Preuzeto i prilagođeno iz Chan i sur. (2009).

Provedeno je istraživanje na miševima korištenjem tumora koji su izražavali visoki nivo prirodno prisutnih antigena (npr. GD2 ganglioizid) ili rekombinantnog ljudskog MUC1 gena. Kombinirani tretman s monoklonskim protutijelima i beta-glukanom doveo je do značajno većeg povlačenja tumora kod svih modela koji su uključivali tumore dojke i jetre. Preživljavanje bez tumora dogodilo se samo u modelima koji su uključivali stabilnu ekspresiju ciljnog antigena. Pojačano djelovanje beta-glukana na monoklonska protutijela protutumorskog odgovora nije se dogodilo kod miševa kojima nedostaju leukocitni CR3 (CD11b^{-/-}) ili serumski C3, što potvrđuje da je potreban CR3 na leukocitima i iC3b na tumorima. Kod miševa s oštećenim granulocitima nije uočeno terapijsko djelovanje beta-glukana te se može zaključiti da su granulociti odgovorni za ubijanje stanica raka. Ovi podatci sugeriraju da bi terapijska učinkovitost monoklonskih protutijela mogla biti značajno pojačana u kombinaciji s beta-glukanom (Hong i sur., 2003).

2.2.1. Receptori beta-glukana

Najizrazitiji učinak beta-glukana sastoji se od povećanja fagocitoze i proliferativnih aktivnosti fagocita - granulocita, monocita, makrofaga i dendritičkih stanica. U tom smislu, makrofagi se smatraju glavnim čimbenikom stanice u obrani domaćina protiv bakterija,

virusa, višestaničnih parazita, tumorskih stanica i pogrešnih klonova vlastitih somatskih stanica (Novak i Vetvicka, 2008).

U svrhu prepoznavanja stranih čestica, na stanicama imunskog sustava postoje specifični receptori za prepoznavanje potencijalnih patogena nazvani receptori za prepoznavanje obrasca (engl. *pattern-recognition receptor*, PRR). PRR zapravo prepoznaju ugljikohidrate, lipide i proteine koji su karakteristični za mikroorganizme i ne pripadaju domaćinu. Ljudski organizam ne može sintetizirati beta-glukan pa ga imunski sustav prepoznaje kao stranu tvar. Smatra se da beta-glukan potiče urođenu imunost vezanjem za PRR receptore. Makrofagi i dendritičke stanice sadrže te receptore i prepoznaju strane molekule, tj. molekularne obrasce patogenih organizama (engl. *pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) (Kim i sur., 2011). PAMPs se razlikuju od molekula domaćina, nisu podložni varijabilnosti, i evolucijski su visoko očuvani. Različiti biopolimeri, uključujući beta-glukane, pripadaju PAMP-ovima. Glavni receptori za prepoznavanje obrasca za beta-glukane su dektin-1 i receptori čija građa sliči Toll proteinu (engl. *Toll-like receptors*, TLRs). Postoje i drugi receptori kao što su već spomenuti receptori za ulomak komplementa 3 (CR3), receptori čistači (engl. *scavenger receptor*, SR) i laktozilceramidi receptori (engl. *lactosylceramide*, LacCer). Općenito, receptori nisu previše specifični i obično detektiraju nekoliko različitih PAMP molekula.

Vezanje beta-glukana na ove receptore dovodi do niza reakcija koje uključuju povećanu kemokinezu, kemotaksiju, migraciju makrofaga na mjesto fagocitoze, degranulaciju koja dovodi do povećanog izražavanja ljepljivih molekula na površini makrofaga, adheziju na endotel i migraciju makrofaga do tkiva. Osim toga, vezanje β -glukana također aktivira unutarstanične procese, karakterizirane oksidativnim praskom nakon fagocitoze invazivnih stanica (dolazi do stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta i slobodnih radikala - vodikovog peroksida, superoksidnih radikala, NO, HOCl itd.). Ujedno se povećava sadržaj i aktivnost hidrolitičkih i metaboličkih enzima i signalizacijskih procesa koji dovode do aktivacije drugih fagocita i izlučivanja citokina i drugih tvari koje iniciraju upalu (npr., IL-1, IL-9) (Novak i Vetvicka, 2008).

2.2.1.1. Receptor za komplement (CR3)

CR3 je heterodimerni transmembranski glikoprotein koji se sastoji od CD11b nekovalentno povezanog sa CD18. Visoko je izražen na neutrofilima, monocitima i NK stanicama, a nešto manje na makrofagima. Iako je već otprije poznata uloga u poticanju

fagocitoze i degranulacije kao odgovora na iC3b-opsonizirani kvasac, CR3 također ima specifično vezno mjesto za beta-glukana koje se povezuje s lektinskim mjestom C-terminalno od I-domene CD11b. Vezanje beta-glukana na lektinsko mjesto CR3 na fagocitima i NK stanicama potiče receptor na pojačanu citotoksičnost protiv iC3b opsoniziranih ciljnih stanica kao što su tumorske stanice, koje su inače otporne na CR3-ovisnu citotoksičnost (Camili i sur., 2018).

Uočeno je da oralno primijenjeni beta-glukan može poboljšati protutumorsku aktivnost fagocita prema iC3b-opsoniziranim stanicama raka. Oralno primijenjene beta-glukane kvasca preuzimaju gastrointestinalni makrofagi i prenose ga do koštane srži gdje se glukan degradira u manje fragmente beta-glukana koje su preuzimaju granulociti preko CR3 receptora. Granulociti s beta-glukanima vezanim na CR3 zatim ubijaju obložene tumorske stanice obložene s iC3b i monoklonskim protutijelima (Slika 5) (Hong i sur., 2004; Chan i sur., 2009). Potrebno je naglasiti da oralna primjena beta-glukana izoliranog iz gljiva ili kvasca ima sposobnost da fenotipski pretvori imunosupresivne M2 makrofage u M1 makrofage. Takva promjena iz M2 u M1 dovodi do smanjenog napretka tumora (Camili i sur., 2018).

2.2.1.2. Laktozilceramidni receptor (LacCer; CDw17)

Laktozilceramidni receptor je glikosfingolipid nađen u plazmi membrane mnogih stanica. Smatra se da se interakcijom beta-glukana i ovog receptora dolazi do aktivacije transkripcijskog čimbenika NFκB (engl. *nuclear factor kappa B*) te da se povećava oksidativni prasak neutrofila i antimikrobna uloga, ali točan mehanizam ovih aktivnosti nije poznat (Akramienė i sur., 2007). Osim beta-glukana, laktozilceramidni receptor prepoznaje i *C. neoformans*, *C. albicans* i *Helicobacter pylori* (Vetvicka i sur., 2008).

2.2.1.3. Receptori slični Tollu (TLRs)

TLR su izraženi na makrofagima, dendritičkim stanicama, B stanicama i endotelnim stanicama te pripadaju u skupinu 1 transmembranskih receptora. Mogu prepoznati različite mikrobe uključujući gljivice, bakterije, viruse i protozoe. Mnogi beta-glukani mogu se vezati na TLRs. Primjerice, zimosan se veže na TLR2/4 receptor na makrofagima i povećava produkciju citokina kao što su čimbenik tumorske nekroze alfa (engl. *tumor necrosis factor α*,

TNF- α) i interleukin 2 (IL-2) preko NFkB te mogu dovesti do sazrijevanja makrofaga. Na molekularnoj razini beta-glukan potiskuje TLR posredovanu NFkB aktivaciju, što može dovesti do smanjene sposobnosti mikroglije da producira citokine kao odgovor na TLR stimulaciju, što je u nekim slučajevima poželjna imunomodulacijska sposobnost beta-glukana. Iako je aktivacija mikroglije, kao odgovor na oštećenja središnjeg živčanog sustava poželjna kako bi se održala homeostaza, predugo aktivirana mikroglija može posredovati oštećenje okolnih neuroloških stanica lučenjem citokina (Shah i sur., 2009).

2.2.1.4. Dektin-1

Dektin-1 je lektin koji se sastoji od 4 komponente: ekstracelularne regije za prepoznavanje ugljikohidrata, kratkog držaka, transmembranske regije i kratkog intracelularnog 40 aminokiselinskog dijela. Dektin-1 specifično prepoznaje beta-(1,3;1,6)-glukane iz biljaka, gljiva i bakterija. Međutim, ne regira s beta-(1,4)-glukanima ni alfa-mananom (Hong i sur, 2011).

Dektin-1 se dijeli i stvara dvije glavne i niz manjih izoformi, različitih učinkovitosti, pri čemu je receptor postranslancijski N-glikoziliran, što doprinosi njegovoj površinskoj ekspresiji i ulozi. Dektin-1 pretežno je izražen na monocitima, makrofagima, neutrofilima i mikrogliji, ali također slabo na limfocitima T te u ljudi na limfocitima B, mastocitima i eozinofilima.

Uočeno je da dektin-1 specifično prepoznaje beta-(1,3)-povezane glukane nezavisno u odnosu na kalcij i primarni je receptor tih ugljikohidrata na leukocitima. Mutacijske analize pokazale su da su dva ostatka (Trp²²¹ i His²²³) potrebna za vezanje beta-glukana, a ta dva ostatka nalaze se u utoru CTLD-a (engl. *C-type lectin like domain*) koji bi mogao biti mjesto vezanja. Prepoznavanje beta-glukana pomoću dektina-1 dovodi do indukcije brojnih staničnih odgovora, uključujući respiratorni prasak, upijanje liganada endocitozom i fagocitozom, proizvodnju metabolita arahidonske kiseline, sazrijevanje dendritičkih stanica i indukciju brojnih citokina i kemokina uključujući TNF, CXCL2, IL-23, IL-6, IL-10 i IL-2 (Huysamen i Brown, 2009).

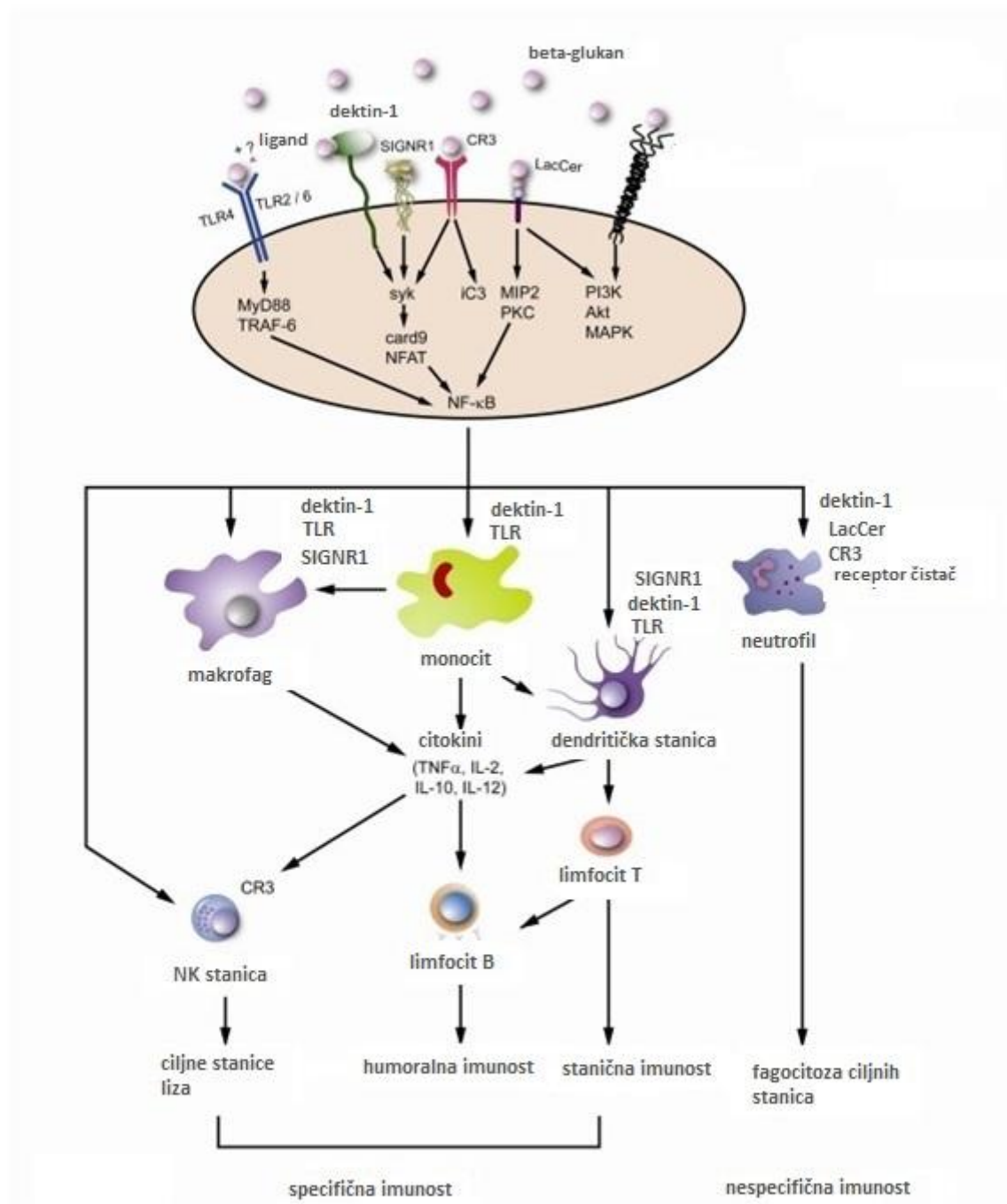
2.2.1.5. Receptori čistači (SR)

Receptori čistači, SR obuhvaćaju strukturno različitu skupinu bjelančevina s velikim rasponom staničnih funkcija, uključenih u homeostazu i imunitet. SR receptori eksprimirani

su na mijeloidnim, epitelnim i endotelnim stanicama i prepoznaju veliki spektar liganda uključujući mikrobe, modificirane lipoproteine i polianionske molekule (Tsoni i Brown, 2008). Proučavanje interakcije beta-glukana sa SR receptorima pokazalo je da SR humanih monocita prepoznaje osnovnu strukturu beta-glukana neovisno o naboju, ali utvrđena je razlika u afinitetu vezanja s obzirom na strukturu beta-glukana i naboj. Glukan-fosfat reagira sa svim veznim mjestima, dok karboksimetil-glukan (CM-glukan, modificirani topivi glukan izoliran iz pekarskog kvasca) i laminarin reagiraju samo s nekim mjestima. Polimerni naboj ima velik učinak na afinitet glukana s receptorima makrofaga (Rice i sur., 2002).

Imuni učinak beta-glukana pripisuje se sposobnosti njihova vezanja na različite receptore eksprimirane na staničnoj površini fagocitnih i citotoksičnih stanica urođene imunosti, uključujući monocite, makrofage, neutrofile i NK stanice (Camilli i sur., 2018).

Značajke potaknutih imunih odgovora ovise o tipovima stanica i uključenim receptorima (Slika 6). Veličina i biokemijski sastav beta-glukana izoliranih iz različitih izvora također utječu na njihova imunomodulacijska svojstva.



Slika 6. Imunosna aktivacija uzrokovana beta-glukanima. Preuzeto i prilagođeno iz Chan i sur. (2009).

2.2.2. Utjecaj na NK-stanice

Urođenoučilačke (prirodnoubojičke) stanice (engl. *natural killer cells*, NK stanice) igraju važnu ulogu u prirođenoj imunosti. One prepoznaju zaražene stanice (npr. stanice zaražene virusom) i stanice u stresu i reagiraju ubijanjem tih zaraženih stanica i lučenjem interferona-gama (engl. *Interferon gamma*, IFN- γ) koji aktivira makrofage. NK-stanice sadrže mnogo citoplazmatskih granula, a nakon aktivacije ispuste sadržaj citoplazmatskih granula u izvanstanični prostor, odnosno na mjesto kontakta sa zaraženom stanicom. U granulama se nalaze proteini koji ulaze u zaražene stanice i aktiviraju enzime te dolazi do apoptoze zaražene stanice (Abbas i sur., 2017).

NK-stanice prepoznaju mikrobe preko aktivirajućeg receptora NKp30 s ulogom PRR-a, aktiviraju citolitičke puteve i tako ih ubijaju. Beta-glukan igra ulogu u ubijanju mikroba, jer čini jednu od komponenta stanične stijenke gljivica te se veže na NKp30, aktivira NK stanice na povećanu ekspresiju NKp30 i perforina, potiče grupiranje NKp30, polarizaciju granula, te također potiče otpuštanje perforina i poboljšava ubijanje gljivice *Cryptococcus* i gljivice *Candida albicans*. Uočeno je i da je beta-(1,3)-glukan bio sposoban vratiti funkciju nefunkcionalnih NK-stanica u HIV-om inficiranih pojedinaca (Li i sur., 2018).

Randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje pokazalo je da suplementacija s pročišćenim linearnim beta-1,3-glukanom značajno povećava razinu aktivnosti NK stanica u usporedbi s kontrolnom skupinom bez neželjenih efekata. Efekt beta-(1,3)-glukana bio je veći u pojedinaca s većim stresom u odnosu na pojedince pod manjim stresom. Rezultat studije pokazao je da bi se upotrebom beta-(1,3)-glukana moglo spriječiti smanjenje imunosnog odgovora uzrokovana stresom. Također, bakterijski beta-(1,3)-glukan značajno je povišio razinu IL-10 u serumu, koji je protuupalni citokin. Smatra se da bi beta-glukan mogao pojačati imunosni odgovor protiv patogena aktivacijom NK-stanica i kontrolom proupalnih citokina povećanom sekrecijom IL-10 (Lee i sur., 2017).

2.2.3. Utjecaj na makrofage

Makrofagi su tkivne fagocitne stanice, a imaju važnu ulogu u prirođenom i stečenom imunosnom odgovoru. Aktiviraju ih mikrobni produkti i citokini limfocita T kao što je IFN- γ . Aktivirani makrofagi imaju brojne uloge kao što je fagocitoza mikroorganizama, lučenje proupalnih citokina i predočavanje antigena pomoćničkim limfocitima T (Abbas i sur., 2017).

Odgovor makrofaga na beta-glukane ovisi o njihovom stanju diferencijacije i prisutnosti lipopolisaharida i/ili citokina u mikrookolišu. Serumski diferencirani makrofagi stimulirani s

beta-glukanom pokazuju nisku produkciju TNF- α i IL-1, visoku produkciju IL-6 i IL-23, i odgođenu indukciju ciklooksigenaze-2 i biosinteze prostaglandina E2 (PGE-2). Ujedno, uočeno je da su stanice otpustile arahidonsku kiselinu kao odgovor na beta-glukan (Municio i sur., 2013).

2.2.4. Utjecaj na citokine

Citokini su proteini koje proizvode i izlučuju različite vrste stanica, a posreduju imunosne i upalne reakcije komunikacijom između stanica imunosnog odgovora. Postoje citokini tipa 1 i citokini tipa 2. U citokine tipa 1 ubrajamo interleukine IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-23, IL-25, IL-27, čimbenik matičnih stanica, čimbenik poticanja kolonija granulocita i monocita, čimbenik stimulacije kolonija monocita i čimbenik stimulacije kolonija granulocita. U citokine tipa 2 ubrajamo interferone IFN- α , IFN- β , IFN- γ , IL-10, IL-22, inhibirajući čimbenik leukemije i onkostatini (Abbas i sur., 2017).

2.2.4.1 Čimbenik nekroze tumora α (TNF- α)

Čimbenik nekroze tumora α je signalni protein (citokin) uključen u upalima i koji sudjeluje u akutnoj fazi upale. Najčešće ga proizvode makrofagi, ali može biti aktiviran i putem drugih stanica kao što su CD4⁺ limfociti, NK stanice, neutrofili, mast stanice i eozinofili. TNF- α , interleukin-1 (IL-1) i kemokini su prvi citokini koji neutrofile i monocite iz krvi privuku na mjestu infekcije. TNF- α i IL-1 pokazuju ujedno i sistemske učinke, kao što su povišena tjelesna temperatura, kao posljedica djelovanja na hipotalamus, a zajedno s IL-6 stimuliraju stanice jetre na stvaranje različitih proteina akutne faze upale poput C-reaktivnog proteina i fibrinogena, u svrhu ograđivanja mjesta infekcije i ubijanja mikroorganizma. U visokim koncentracijama, TNF potiče stvaranje tromba na endotelu te smanjuje krvni tlak. Teška bakterijska infekcija može dovesti do opasnog, čak letalnog sindroma nazvanog septički šok. Upravo je visoka razina TNF odgovorna za rane kliničke i patološke manifestacije ovog sindroma, nastala kao odgovor na prisutnost bakterija u organizmu. Dakle, regulacijom razine TNF u organizmu može se kontrolirati imunosni odgovor na prisustvo patogena (Abbas i sur., 2017).

Pokazano je da beta-glukan može stimulirati, ali i suzbiti oslobađanje TNF- α iz makrofaga, preko interakcije vitronektina s gljivicama. Vitronektin je glikoprotein važan za adheziju u domaćina, veže se s gljivicama i potiče makrofage na njihovo prepoznavanje i

potom povećava otpuštanje makrofaga TNF- α kao odgovor na ovu gljivičnu komponentu (Savill i sur, 1990).

Maksimalno otpuštanje TNF- α dobiveno je s umjerenim koncentracijama beta-glukana (100 do 200 mg/ml), dok su visoke koncentracije (>500 mg/ml) spriječile otpuštanje TNF- α . Dobiveni učinak visokim dozama beta-glukana bio je posredovan vezanjem beta-glukana na topljiv TNF- α preko lektin-povezujuće domene citokina, čineći TNF- α manje dostupnim za mjerenje. S druge strane, vezanje vitronektina zavisilo je o upotrebnoj dozi beta-glukana i vitronektina. Tretiranje beta-glukana s vitronektinom značajno je povećalo oslobađanje TNF- α . Ovo dovodi do zaključka da gljivični beta-glukan može direktno modulirati otpuštanje TNF- α iz makrofaga. Također, vitronektin se specifično veže na beta-glukan i povećava otpuštanje citokina iz makrofaga (Olson i sur., 1996).

2.2.5. Utjecaj na limfocite

Limfociti su glavne stanice stečene imunosti, a jedini proizvode klonski raspoređene receptore specifične za pojedine antigene. Općenito govorimo o postojanju limfocita T i limfocita B. Limfociti B proizvode protutijela te posreduju humoralnu imunost, a limfociti T su odgovorni za staničnu imunost. Unutar skupine limfocita T postoje citotoksični limfociti T i pomoćnički limfociti T. Pomoćnički limfociti T pomažu limfocitima B proizvoditi protutijela, a fagocitima uništiti „progutane“ mikroorganizme. Citotoksični limfociti T ubijaju stanice u kojima se nalaze unutarstanični mikroorganizmi. Postoji i podvrsta pomoćničkih limfocita T, regulacijski limfociti T, odgovorni za sprječavanje i ograničavanje imunosnog odgovora.

Pokazano je da beta-glukan može direktno aktivirati B limfocite, što dovodi do stvaranja citokina odgovornih za aktivaciju neutrofila. Iako beta-glukan aktivira limfocite na proizvodnju IL-8, ne potiče njihovo dijeljenje i proizvodnju IgM protutijela (Ali i sur., 2015).

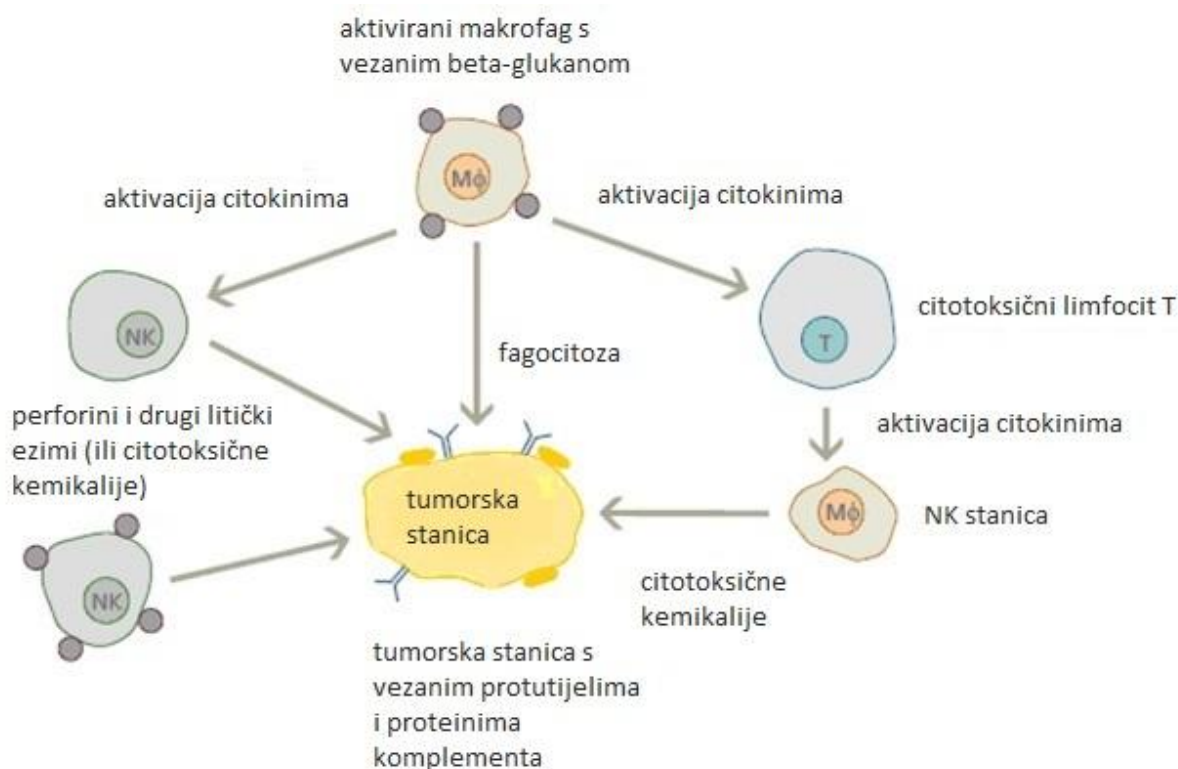
2.2.6. Utjecaj na neutrofile

Neutrofili su prve bijele krvne stanice koje putuju do mjesta upale gdje sudjeluju u uklanjanju mikroorganizama fagocitozom i oslobađanjem antimikrobnih molekula degranulacijom granula na njihovoj površini. Poticaj za njihovu migraciju na mjesto upale mogu biti kemotaksični čimbenici, kao što su citokini. Poznato je i da aktivirani neutrofili daju signale važne za sazrijevanje drugih urođenih imunosnih stanica (makrofaga i dendritičnih stanica), kao i za regulaciju T i B limfocita. U životinja tretiranih beta-glukanom, 28 % se povećao broj neutrofila (LeBlanc i sur., 2006), ali i njihova funkcija (Murphy i sur., 2007). Beta-glukan pokazao se uspješnim i u povećanju reaktivnih kisikovih vrsta u neutrofilima koje služe ubijanju mikroorganizama (de Souza Bonfim-Medonça i sur., 2014).

Osim što potiče stvaranje i otpuštanje mikrobnih agenasa, beta-glukan poboljšava i sposobnost kemotaksije cirkulirajućih neutrofila putem p38 mitogen-aktivirane proteinske kinaze (Le Blanc i sur., 2006).

2.3.7. Protutumorska aktivnost beta-glukana

Protutumorska aktivnost beta-glukana proizlazi iz direktnog poticanja aktivnosti makrofaga, neutrofila i NK-stanica i indirektno stimulacije citotoksičnih limfocita T. Prvo se na tumorske stanice vežu mali serumski proteini (proteini komplekta) i protutijela. Beta-glukan se veže na makrofage i aktivira ih, potom aktivirani makrofagi fagocitiraju označenu stanicu u procesu zvanom opsonizacija. Aktivirani makrofagi proizvode citokine koji potiču aktivnost limfocita T i NK stanica. NK stanice proizvode kemijske supstance koje uništavaju stanice tumora, a citotoksični T limfociti luče citokine koji stimuliraju makrofage da proizvode druge protutumorske tvari (Slika 7) (Putus org., 2009; Zhang i sur., 2018).



Slika 7. Protutumorska aktivnost beta-glukana. Preuzeto i prilagođeno iz Putus org. (2009).

Beta-glukan pokazuje veliki potencijal u imunoterapiji, posebno u kombinaciji s monoklonskim protutijelima. Imunoterapija monoklonskim protutijelima pokazala se uspješnom zbog mogućnosti ciljanog prepoznavanja stanica raka i minimalnog oštećenja normalnog tkiva, što joj daje veliku prednost u odnosu na radioterapiju i kemoterapiju. Monoklonska protutijela proizvode se koristeći tehnologiju hibridoma, reagiraju sa specifičnim

antigenima na površini određenih tipova stanica raka (Akramienė i sur., 2007). Istraživanja su pokazala da beta-glukan izoliran iz kvasca i gljiva pokazuje značajnu anti-tumorsku aktivnost u kombinaciji s monoklonskim protutijelima. U odnosu na beta-glukan iz gljiva, beta-glukan izoliran iz kvasca pokazao je mnogo veću aktivnost kao katalizator uz mogućnost dugoročnog opstanka bez tumora (Driscoll i sur., 2009).

3. ZAKLJUČAK

Iako su istraživanja utjecaja beta-glukana na imunosni sustav kompleksna i potrebno je uložiti još dosta vremena kako bi se dobili točniji rezultati i preporuke, može se zaključiti da beta-glukan pokazuje veliki potencijal kao sredstvo za liječenje i prevenciju bolesti. Pokazano je da beta-glukan utječe na različite komponente imunosnog sustava, potiče poželjan imunosni odgovor, doprinoseći tako većoj obrambenoj sposobnosti organizma. S obzirom da smo izloženi sve većim zdravstvenim rizicima, raste udio pretila populacije, povećava se udio oboljelih od kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa, povećava se i potreba za dodacima prehrani koji će spriječiti ili barem smanjiti simptome ovih bolesti. Beta-glukan kao bioaktivni spoj nalazi se u velikom broju namirnica, od kojih neke i svakakodnevno konzumiramo, kao što je zob. Međutim, u svakodnevnoj prehrani nalazi se jako mala koncentracija, za razliku od dodataka prehrani, gdje se nalaze veće, pročišćene koncentracije. Stoga se beta-glukan se svakako preporuča kao dodatak prehrani za oboljele od karcinoma, ali i drugim osobama kojima je oslabljen imunosni sustav. Dodacima prehrani osigurati će se povećane potrebe, a osigurati će se i drugi vitamini i mineralni, ovisno o sastavu primjenjenog dodatka prehrani.

4. LITERATURA

1. Abbas A.K., Lichtman, A.H Pillai Shiv. (2017) Osnove imunologije, 5. izd., Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, str. 1 – 6, 43 – 45, 289, 291, 303 – 306.
2. Akramienė D., Kondrotas A., Didžiapetrienė J., Kėvelaitis E. (2007) Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)* **43**: 597 – 606.
3. Ali M.F., Driscoll C.B., Walters P.R., Limper A.H., Carmona E.M. (2015) β -glucan-activated human B lymphocytes participate in innate immune responses by releasing proinflammatory cytokines and stimulating neutrophil chemotaxis. *The Journal of Immunology* **195**: 5318 – 5326.
4. Andrade E.F., Vieira Lobato R., Vasques de Araújo T., Zangerônimo M.G., de Sousa R.V., Pereira L.J. (2015) Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. *Nutricion Hospitalaria* **31**.
5. Breedveld M.W., Miller K.J. (1994) Cyclic beta-glucans of members of the family Rhizobiaceae. *Microbiological Reviews* **58**: 145 – 161.
6. Camilli G., Tabouret G., Quintin J. (2018) The Complexity of Fungal β -Glucan in Health and Disease: Effects on the Mononuclear Phagocyte System. *Frontiers in Immunology* **9**: 673.
7. Chan G.C., Chan W.K., Sze D.M. (2009) The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. *Journal of Hematology and Oncology* **2**: 25.
8. Cooper K. (2017) How Much Beta Glucan Is Safe to Take Daily? <<https://www.livestrong.com/article/472959-how-much-beta-glucan-is-safe-to-take-daily/>> Pristupljeno 7.6.2018.
9. Cornes J.S. (1965) Number, size, and distribution of Peyer's patches in the human small intestine: Part I The development of Peyer's patches. *Gut* **6**: 225.
10. de Souza Bonfim-Mendonça P., Ratti B.A., Godoy J.D.S.R., Negri M., de Lima N.C.A., Fiorini A., Hatanaka E., Consolaro M.E.L., de Oliveira Silva S., Svidzinski T.I.E. (2014) β -Glucan Induces Reactive Oxygen Species Production in Human Neutrophils to Improve the Killing of *Candida albicans* and *Candida glabrata* Isolates from Vulvovaginal Candidiasis. *PLoS One* **9**: 107805.
11. Driscoll M., Hansen R., Ding C., Cramer D.E., Yan J. (2009) Therapeutic potential of various β -glucan sources in conjunction with anti-tumor monoclonal antibody in cancer therapy. *Cancer Biology & Therapy* **8**: 218 – 225.

12. EFSA Jurnal (2011) EFSA – European Food Safety Authority <https://www.efsa.europa.eu/> Pristupljeno 5.6.2018.
13. El Khoury D., Cuda C., Luhovyy B.L., Anderson G.H. (2011) Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism* **2012**: 851362.
14. Fesel P.H., Zuccaro A. (2016) β -glucan: Crucial component of the fungal cell wall and elusive MAMP in plants. *Fungal Genetics and Biology* **90**: 53 – 60.
15. Ho H.V., Sievenpiper J.L., Zurbau A., Mejia S.B., Jovanovski E., Au-Yeung F., Jenkins A.L., Vuksan V. (2016) The effect of oat β -glucan on LDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol and apoB for CVD risk reduction: A systematic review and meta-analysis of randomised-controlled trials. *British Journal of Nutrition* **116**: 1369 – 1382.
16. Hong F., Hansen R.D., Yan J., Allendorf D.J., Baran J.T., Ostroff G.R. and Ross, G.D., (2003) β -Glucan functions as an adjuvant for monoclonal antibody immunotherapy by recruiting tumoricidal granulocytes as killer cells. *Cancer Research* **63**: 9023-9031.
17. Hong F., Yan J., Baran J.T., Allendorf D.J., Hansen R.D., Ostroff G.R., Xing P.X., Cheung N.K.V., Ross G.D. (2004) Mechanism by which orally administered β -1,3-glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *The Journal of Immunology* **173**: 797 – 806.
18. Huysamen C., Brown G.D. (2008) The fungal pattern recognition receptor, Dectin-1, and the associated cluster of C-type lectin-like receptors. *FEMS Microbiology Letters* **290**: 121 – 128.
19. Kim H.S., Hong J.T., Kim Y., Han S.B. (2011) Stimulatory effect of β -glucans on immune cells. *Immune network* **11**: 191 – 195.
20. Kofuji K., Aoki, A., Tsubaki K., Konishi M., Isobe, T., Murata Y. (2012) Antioxidant activity of β -glucan. *ISRN pharmaceutics* **2012**: 125864.
21. LeBlanc B.W., Albina J.E., Reichner J.S. (2006) The effect of PGG- β -glucan on neutrophil chemotaxis in vivo. *Journal of Leukocyte Biology* **79**: 667 – 675.
22. Lee Y.J., Paik D.J., Kwon D.Y., Yang H.J., Park Y. (2017) Erratum: *Agrobacterium* sp.-derived β -1,3-glucan enhances natural killer cell activity in healthy adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Nutrition Research and Practice* **11**: 525.
23. Li S.S., Ogbomo H., Mansour M.K., Xiang R.F., Szabo L., Munro F., Mukherjee P., Mariuzza R.A., Amrein M., Vyas J.M., Robbins S.M. (2018) Identification of the fungal ligand triggering cytotoxic PRR-mediated NK cell killing of *Cryptococcus* and *Candida*. *Nature Communications* **9**: 751.

24. Municio C., Alvarez Y., Montero O., Hugo E., Rodríguez M., Domingo E., Alonso S., Fernandez N., Crespo M.S. (2013) The response of human macrophages to β -glucans depends on the inflammatory milieu. *PLoS One* **8**: 62016.
25. Murphy E.A., Davis J.M., Brown A.S., Carmichael M.D., Ghaffar A., Mayer E.P. (2007) Oat beta-glucan effects on neutrophil respiratory burst activity following exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **39**: 639 – 644.
26. Murphy E.A., Davis J.M., Carmichael M.D. (2010) Immune modulating effects of β -glucan. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **13**: 656 – 661.
27. Noss I., Doekes G., Thorne P.S., Heederik D.J., Wouters I.M. (2013) Comparison of the potency of a variety of β -glucans to induce cytokine production in human whole blood. *Innate Immunity* **19**: 10 – 19.
28. Novak M., Vetvicka V. (2008) β -glucans, history, and the present: immunomodulatory aspects and mechanisms of action. *Journal of Immunotoxicology* **5**: 47-57.
29. Olson E.J., Standing J.E., Griego-Harper N., Hoffman O.A., Limper A.H. (1996) Fungal beta-glucan interacts with vitronectin and stimulates tumor necrosis factor alpha release from macrophages. *Infection and Immunity* **64**: 3548 – 3554.
30. Petravić-Tominac V., Zechner-Krpan V., Grba S., Srećec S., Panjkota-Krbavčić I., Vidović L. (2010) Biological effects of yeast β -glucans. *Agriculturae Conspectus Scientificus* **75**: 149-158.
31. Phytomedica Poland Co. Ltd. β -glucan uptake from digestive tract <<http://phytomedica.co.uk/betaglucan-uptake-mcell.htm>> Pristupljeno 5.6.2018
32. Pins J.J., Kaur H. (2006) A review of the effects of barley beta-glucan on cardiovascular and diabetic risk. *Cereal Foods World* **51**: 8.
33. Pollak L. i Ćosić A. Imunomodulirajuća svojstva beta-glukana. <<http://www.inpharma.hr/index.php/news/92/20/Imunomodulirajuca-svojstva-beta-glukana>>Pristupljeno 6.6.2018.
34. Pravilnik o dodacima prehrani (2013) *Narodne novine* **126** (NN 126/2013).
35. Putus.org (2009) The application of oat beta-glucan standards in immunology activity <<http://www.putus.org/news/2009/0113/8.shtml>> Pristupljeno 7.6.2018.
36. Rice P.J., Kelley J.L., Kogan G., Ensley H.E., Kalbfleisch J.H., Browder I.W., Williams D.L. (2002) Human monocyte scavenger receptors are pattern recognition receptors for (1 \rightarrow 3)- β -D-glucans. *Journal of Leukocyte Biology* **72**: 140 – 146.
37. Savill J., Dransfield I., Hogg N., Haslett C. (1990) Vitronectin receptor-mediated phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *Nature* **343**: 170.

38. Shah V.B., Williams D.L., Keshvara L. (2009) β -Glucan attenuates TLR2-and TLR4-mediated cytokine production by microglia. *Neuroscience Letters* **458**: 111 – 115.
39. Stier H., Ebbeskotte V., Gruenwald J. (2014) Immune-modulatory effects of dietary Yeast Beta-1,3/1,6-D-glucan. *Nutrition Journal* **13**: 38.
40. Špoljarić D., Fumić T., Kezić D., Valpotić H., Fabijanić V., Popović M., Sladoljev S., Mršić G., Valpotić I. (2011) β -glukani: Prirodni modifikatori imunskog odgovora nedovoljno poznati u veterini. *Veterinarska Stanica* **42**: 361 – 376.
41. Tsoni S.V., Brown G.D. (2008) β -Glucans and Dectin-1. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1143**: 45 – 60.
42. Vetvicka V. (2011) Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug. *World Journal of Clinical Oncology* **2**: 115.
43. Vetvicka V., Vetvickova J. (2008) A comparison of injected and orally administered β -glucans. *JANA* **11**: 42 – 48.
44. Wang Q., Ellis P.R. (2014) Oat β -glucan: physico-chemical characteristics in relation to its blood-glucose and cholesterol-lowering properties. *British Journal of Nutrition* **112**: 4 – 13.
45. Zhang L., Li X., Xu X., Zeng F. (2005) Correlation between antitumor activity, molecular weight, and conformation of lentinan. *Carbohydrate Research* **340**: 1515 – 1521.
46. Zhang M., Kim J.A., Huang A.Y.C. (2018) Optimizing tumor microenvironment for cancer immunotherapy: β -Glucan-based nanoparticles. *Frontiers in Immunology* **9**: 1 – 14.
47. Zimmerman J.W., Lindermuth J., Fish P.A., Palace G.P., Stevenson T.T., DeMong D.E. (1998) A novel carbohydrate-glycosphingolipid interaction between a beta-(1-3)-glucan immunomodulator, PGG-glucan, and lactosylceramide of human leukocytes. *The Journal of Biological Chemistry* **273**: 22014 – 22020.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.


Magdalena Merkaš